UEBER PYRIDINIOPEPTIDE UND -POLYPEPTIDE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Woldt
aus Fürstenwalde/Spree

1961

Druck:

Ernst - Reuter - Gesellschaft
der Förderer und Freunde der Freien Universität e.V.

Dissertations - Druckstelle

Berlin-Dahlem, Garystr. 45, Tel.: 76 52 61, App. 668

UEBER PYRIDINIOPEPTIDE UND -POLYPEPTIDE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Joachim Woldt
aus Fürstenwalde/Spree

6264/61

Gutachter: Prof. Dr. W. Broser

Prof. Dr. R. Riemschneider

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juni 1961

Tag der Promotion: 19. Juli 1961

Inhaltsübersicht

		Seite
I.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	5
II.	N^{ε}-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin	7
	a. Synthese	7
	b. Bestimmung des Wirkungsgruppengehaltes	9
	c. Rotationsdispersion	12
III.	SYNTHESE DER PYRIDINIOVERBINDUNGEN	17
IV.	PYRIDINIOPEPTIDE	18
	a. Synthese	18
	b. UV-Absorptionsmessungen der Cyanid-anlagerung	22
V.	INFRAROTSPEKTREN VON PYRIDINIOVERBINDUNGEN	35
VI.	EXPERIMENTELLER TEIL	47
VII.	ZUSAMMENFASSUNG	58
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	59

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546809_0036

I. Einleitung und Problemstellung

W. LAUTSCH und Mitarbeiter haben bei Untersuchungen an wirkungsgruppensubstituierten makromolekularen Verbindungen als Fermentmodelle (Oxydasemodelle) schon frühzeitig zeigen können (1-4), daß der Peptidkette als makromolekularem Träger der Wirkungsgruppe eine Sonderstellung (5) zukommt. Daß diese Sonderstellung der Peptidkette neben zwischenmolekularen Wechselbeziehungen auf Energiefortleitung in der Peptidkette zurückzuführen ist, konnte an synthetischen strukturierten porphyrinsubstituierten Polypeptiden und solchen Peptiden mit definierten Aminosäuresequenzen gezeigt werden (6-8).

Die Darstellung der wirkungsgruppensubstituierten Polypeptide erfolgte durch Einbeziehung der Wirkungsgruppe in den Polymerisationsvorgang (1), wobei der Einbau im Falle bifunktioneller Porphyrine am C- bzw. N-Ende der Polypeptidkette erfolgte. Die Verknüpfung der Porphyrinwirkungsgruppen mit definierten Peptiden konnte durch Heranziehung der Methoden der Peptidsynthese (9) erreicht werden.

Auf der Suche nach anderen prosthetischen Gruppen, als denen aus der Chlorophyll- und Häminreihe lag es nahe, Pyridinverbindungen (10) und unter diesen besonders das Nicotinsäureamid heranzuziehen.

In grundlegenden Arbeiten über wasserstoffübertragende Fermente (11), die u.a. zur Strukturaufklärung der Pyridinnucleotide führte, konnte O. WARBURG (12-13) nämlich zeigen, daß in den Codehydrasen dem quartär an Ribose gebundenen Nicotinsäureamid die Funktion der Wasserstoffübertragung

zukommt, indem es unter Wasserstoffaufnahme und Uebergang in die Dihydrostufe als solche dann den Wasserstoff an geeignete Acceptoren abgibt.

Diese Befunde führten zur Synthese einer großen Anzahl von Modellsubstanzen, die an Stelle des natürlichen Restes andere, wie z.B. Alkyl-, gemischte Alkylarylverbindungen mit funktionellen Gruppen, tragen. So wurden im Hinblick auf Untersuchungen des Mechanismus der Wasserstoffübertragung und der Anionenaddition von P. KARRER N^1-alkylierte Nicotinsäureamidderivate (14), von G.W. RAFTER u. S. P. COLOWICK, N^1-methylierte Pyridiniumjodide (15), von K. WALLENFELS u. H. SCHUELY (16) Pyridinioalkyl-, Pyridinioalkylarylverbindungen mit unterschiedlichen Substituenten am Pyridinring hergestellt.

Ueber den Einbau des Nicotinsäureamids in Peptid- und Polypeptidketten unter Quarternierung des Ringstickstoffs ist bisher nichts bekannt. Es erhob sich die Frage, ob ein derartiger Einbau grundsätzlich möglich ist und ob schon einfache derartige Verbindungen, gegenüber den Alkylsubstituierten ein unterschiedliches Verhalten erkennen lassen.

Darüber soll im folgenden berichtet werden.

II. N^{ε}-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin

a. Synthese

Die von W. LAUTSCH und Mitarbeitern (1) beschriebenen wirkungsgruppensubstituierten makromolekularen Polypeptide, bei denen die Wirkungsgruppen hauptsächlich bifunktionelle Verbindungen vom Porphyrin- bzw. Hämintyp sind, wurden hergestellt durch Einbeziehung der Wirkungsgruppe in den Polymerisationsvorgang. Dieses Verfahren läßt sich aber hier wegen der geringen Löslichkeit der Pyridinioverbindungen in organischen Lösungsmitteln und ihrer Unbeständigkeit gegen Alkalien und Säuren nicht anwenden. Deshalb kann nur ein nachträglicher Einbau des Nicotinsäureamid-Derivates als prosthetische Gruppe in das Polypeptid in Frage kommen. Dabei bot sich zunächst die Alkylierung der ε-Aminogruppe des Poly-L-lysin mit N^1-alkylierten Pyridinderivaten an. Es wurde das 3-Carbamoylpyridinio-ß-oxy-γ-chlorpropan-bromid durch Umsetzen von Nicotinsäureamid mit α-Brom-γ-chlorhydrin hergestellt. Poly-L-lysinhydrobromid wurde aus dem $N^{\varepsilon,\alpha}$-Dicarbobenzoxy-L-lysin (17) über das N -Carbobenzoxy-N^{α}-carboxyl-L-lysinanhydrid (18) und dessen Polymerisation in Benzol bzw. Dioxan, unter Zusatz berechneter Mengen methanolischer KOH als Initiator, zum N^{ε}-Carbobenzoxy-poly-L-lysin, sowie anschließender Abspaltung der Cbo-Gruppe mit HBr/Eisessig bzw. HBr/SO_2 (19) erhalten. Beim Versuch, freies Poly-L-lysin durch Behandlung des Hydrobromids mit Triäthylamin bzw. NH_3 oder NaOH herzustellen, wurde ein in allen Lösungsmitteln unlösliches Poly-L-lysin erhalten. Selbst durch Blockpolymerisation und durch Zusatz hoher Initiatormengen bei der Lösungs-

polymerisation erhaltenes niedermolekulares Poly-L-lysin ist völlig unlöslich. Der Versuch, eine verdünnte Lösung des Hydrobromids über Anionenaustauscher (dowex 2 u. IRA 400) zu schicken, führte nicht zum Erfolg. Es wurden nur geringe Spuren freien Polypeptids erhalten, die nach einigem Stehen unlöslich wurden. Die Hauptmenge fiel auf dem Ionenaustauscher aus.

Auch von Seiten des 3-Carbamoylpyridinio-ß-oxy-γ-chlorpropan-bromids ergaben sich bei Alkylierungsversuchen unter hier nicht näher ausgeführten Bedingungen, Ergebnisse, die die Alkylierungsreaktion zur Synthese der obigen Verbindung ausschließen. So erfahren Pyridinioverbindungen in alkalischer (NaOH- bzw. Na_2CO_3-Lösung) Lösung nach einigem Stehen, schneller beim Erwärmen spektrale Veränderungen. Neben der für Pyridinioverbindungen charakteristischen, zwischen 260 und 270 mµ liegenden Absorptionsbande, tritt eine irreversible Bande bei 360 mµ auf.

Auf der Suche nach anderen N^1-substituierten Pyridinioverbindungen, die mit Aminhydrochlorid- bzw. -bromid-Gruppen verknüpft werden können, wurde Nicotinsäureamid mit ß-Chlorpropionsäure zum 3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid und als Vergleichssubstanz für optische Messungen Nicotinsäureamid mit ß-Chlorpropionsäuremethylester zum 3-Carbamoylpyridiniopropionsäuremethylester-chlorid umgesetzt. K. WALLENFELS u. H. SCHUELY (16) haben inzwischen die Darstellung der entsprechenden Pyridiniobromide beschrieben.

3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid läßt sich nun unmittelbar mit Poly-L-lysinhydrobromid zum N^ϵ-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin umsetzen, wenn man die Carbodiimidmethode nach I.C. SHEEHAN (20) so ab-

wandelt und anstelle der sonst gebräuchlichen Lösungsmittel wie Dioxan, Tetrahydrofuran etc., wäßriges, 75 %iges Pyridin unter sonst analogen Bedingungen verwendet.

Man muß annehmen, daß sich in wäßriger Pyridinlösung ein Gleichgewicht

$$\text{Pyridin} + \text{Poly-L-lys-NH}_2 \cdot \text{HBr} \rightleftharpoons \text{Pyridinium} \cdot \text{HBr} + \text{Poly-L-lys-NH}_2$$

ausbildet, das freies nun kupplungsfähiges Poly-L-lysin in Lösung hält.

Dieses Verfahren ist auch auf Aminosäureester und Peptidesterhydrochloride anwendbar und liefert Ausbeuten von 40 - 60 %.

Bei vorliegender Verbindung war nun zu prüfen, wie viele ε-Aminogruppen des Poly-L-lysins mit 3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid umgesetzt worden sind.

Zur Bestimmung des Wirkungsgruppengehaltes wurde zunächst bei 266,4 mμ der molare Extinktionskoeffizient des 3-Carbamoylpyridiniopropionylchlorid zu = $0{,}439 \cdot 10^4$ cm^2 Mol^{-1} in H_2O bestimmt, dann die Extinktion einer 0,01082 %igen Lösung des Kupplungsproduktes in H_2O, die E = 0,358 beträgt. Aus diesen Werten läßt sich nach $c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d}$ die molare Konzentration errechnen, die 1 Pyridinioeinheit trägt. Meßwerte und Berechnung sind im folgenden wiedergegeben:

b. Berechnung des Wirkungsgruppengehaltes

1. EINWAAGE 3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid:

3,88 mg/100 ml H_2O = $1{,}58 \cdot 10^{-4}$ Mol/Ltr

a) Bestimmung des Maximums:

Skt	Io	I	log Io/I = E	
516	23,8	52,6	0,344	
517	23,5	52,5	0,350	266,4
518	23,8	52,3	0,344	
519	23,6	52,7	0,340	

b) Bestimmung log Io/I b 266,4 mμ

Skt	Io	I	log Io/I = E
	22,7	50,4	0,347
517	22,7	50,4	0,347
	22,6	50,2	0,347

$E = \log \frac{Io}{I}$ $\quad \varepsilon = \frac{E}{c \cdot d}$ $\quad$ c = Mol/Ltr
d = Schichtdicke

$$\varepsilon = \frac{0{,}347}{1{,}58 \cdot 10^{-4} \cdot 0{,}5} = 0{,}439 \cdot 10^{4}\ cm^{2}\ Mol^{-1}$$

2. EINWAAGE N^{ε}-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin: 10,82 mg/100 ml

a) Bestimmung des Maximums:

Skt	Io	I	log Io/I = E
514	20,8	47,0	0,354
515	20,7	47,3	0,358
516	22,5	51,3	0,359
517	22,4	50,6	0,354
518	22,3	50,4	0,355
519	22,4	49,7	0,357

b) Bestimmung von log Io/I b. 265,7 mμ

Skt	Io	I	log Io/I = E
	21,0	47,7	0,358
516	20,9	47,6	0,358
	21,0	47,7	0,358

E = 0,358

$$\varepsilon = \frac{E}{c \cdot d}$$ c = Pyridiniumkomponenten/Ltr

$$c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d}$$

$$= \frac{0{,}358}{0{,}439 \cdot 10^{4} \cdot 0{,}5} = 1{,}631 \cdot 10^{-4}$$

Die vermessene Lösung enthält im Liter 0,1082 g Substanz

0,1082 g Substanz enthalten $1{,}631 \cdot 10^{-4}$ Mol Pyridinioeinheiten

x " " 1 Mol "

$$\frac{0{,}1082}{1{,}631 \cdot 10^{-4}} = 0{,}06634 \cdot 10^{4}$$

d.h. 663,4 g Substanz enthalten 1 Pyridiniumkomponente.

Das Molgewicht der Pyridiniumkomponente beträgt 213,6 g.

Das Molgewicht der Lysineinheit beträgt unter Vernachlässigung eines H-Atoms 127,2 g.

Daraus ergibt sich, daß im Mittel 1 Pyridiniokomponente auf 3,56 Lysineinheiten kommt.

Bei anderen Ansätzen, die zunächst einen Wirkungsgruppengehalt von 1 Pyridiniokomponente auf 10-11 Lysineinheiten besaßen, konnte selbst durch mehrmalige Carbodiimidkupplung keine höhere Umsatzrate als 1: 3,5 erzielt werden.

c. Rotationsdispersion

Messungen der optischen Drehung an Polypeptiden wurden herangezogen, um Aussagen über deren Struktur zu machen. Durch Berechnung der Bindungslängen (21) sowie durch röntgenoptische (23) und ultrarotspektroskopische Untersuchungen (22) hat man zeigen können, daß Proteine und synthetische Polypeptide in festem Zustand in helicaler, gestreckter bzw. gefalteter Form auftreten können.

Unter Heranziehung von theoretischen Betrachtungen MOFFITTS (24) über die komplexe Rotationsdispersion hat P. DOTY u.a. (25) durch Messung der spezifischen Drehung in Abhänigkeit von Wellenlänge, p_H-Wert, Lösungsmittel und Temperatur an Poly-L-glutaminsäure die helicale Struktur und die Struktur einer Zufallsknäulung (random coiled) auch in Lösung nachweisen können. Danach liegt die α-Helix (21) im Bereich niedrigem p_H vor (p_H 5,5). Sie erfährt eine Umwandlung in die zufallsgeknäulte Form bei höherem p_H (p_H 6,5) infolge der abstoßenden und die intramolekularen Protonenbrücken spaltenden Kräfte der ionisierten Carboxylgruppe. W. LAUTSCH hatte diese Tatsache im Rahmen seiner Untersuchungen über das optische Verhalten und die Struktur mit prosthetischen Gruppen ausgerüsteter Polypeptide ausgesprochen (5) und die Existenz der α-Helix sowie der Zufallsknäulung für diese Verbindungen in Lösung zeigen können (8).

Für Poly-L-lysin muß man eine stabile α-Helix im Bereich alkalischen p_H erwarten. Da aber Poly-l-lysin im alkali-

schen Bereich unlöslich ist, wie weiter oben schon ausgeführt, sind Meßwerte schwer zugänglich. Durch Einführung der Pyridiniopropionyl-Gruppe, die in vorliegender Verbindung mit jeder 3.-4. ε -Aminogruppe des Poly-L-lysins verknüpft ist, kann man diese Schwierigkeiten umgehen.

Vom N^{ε}-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin wurde die Abhängigkeit der spezifischen Drehung von der Wellenlänge $\alpha = f(\lambda)$ und vom p_H-Wert $\alpha_D = f(p_H)$ gemessen. Als Lösungsmittel diente eine 0,2 molare NaCl-Lösung in Wasser mit dem halben Volumen Dioxan verdünnt, wobei das Dioxan die Wirkung des Wassers als stark wasserstoffbrückenzerstörendes Agenz abschwächen soll. Die Konzentration betrug $c = 1$, die Temperatur 20-21°C, $l = 2$ dm.

In Tab. 1 und 2 und Abb. 1 und 2 sind die Meßwerte und Meßkurven wiedergegeben.

Für $\alpha = f(\lambda)$ im Bereich von 700 - 500 mμ erhält man beim Uebergang von längeren zu kürzeren Wellenlängen zunehmend negative Werte für α entsprechend einer random coiled Konfiguration (Zufallsknäulung).

Daß die Konfiguration p_H-abhängig ist, zeigt die Abb. 2, in der $[\alpha]_D^{20-21°} = f(p_H)$ aufgetragen wurde. Im p_H-Bereich 3-8 liegt die zufallsgeknäulte Form vor, die sich im p_H-Bereich 8-9 zur α-Helix stabilisiert und als solche bei höherem p_H ausschließlich vorliegt.

Meßwerte:

I. Nullpunkt

359,79
359,76
359,77
359,77
359,77
359,78
359,78
2518,42

II. $\alpha = f(\lambda)$

	180 Skt 503 mμ	200 Skt 521,1 mμ	225,0 Skt 549,5 mμ	253,0 Skt 589 mμ	275 Skt 629 mμ	300 Skt 688 mμ
	358,77	358,75	358,85	358,98	359,02	359,20
	358,64	358,67	358,88	358,96	359,12	359,15
	358,62	358,81	358,90	358,93	359,05	359,12
	358,65	358,83	358,80	358,94	359,10	359,25
	358,53	358,67	358,84	358,90	359,06	359,19
	358,67	358,70	358,79	358,95	359,05	359,18
	358,53	358,88	358,90	358,91	359,05	359,13
ø	358,6300	358,7611	358,8514	358,9385	359,6642	359,1742
α	-1,1440	-1,0070	-0,923	-0,835	-0,710	-0,600
$[\alpha]_\lambda$	-57,20	-50,35	-46,15	-41,75	-35,50	-30,00

Tab. 1

III. $[\alpha]_D^{20-21°} = f(p_H)$

	$p_H = 3$	$p_H = 4$	$p_H = 5$	$p_H = 6$	$p_H = 7$	$p_H = 8$	$p_H = 9$	$p_H = 10$	$p_H = 11$
	359,06	359,08	359,08	359,07	359,08	359,18	359,22	359,40	359,45
	359,09	359,09	359,08	359,10	359,12	359,14	359,18	359,38	359,44
	359,09	359,09	359,10	359,06	359,09	359,11	359,22	359,43	359,45
	359,09	359,10	359,06	359,09	359,09	359,12	359,24	359,45	359,42
	359,11	359,07	359,12	359,09	359,07	359,14	359,30	359,43	359,43
	359,09	359,09	359,10	359,12	359,09	359,14	359,21	359,39	359,43
	359,10	359,09	359,07	359,10	359,13	359,12	359,25	359,40	359,44
Ø	359,0900	359,0871	359,0833	359,0900	359,0957	359,1357	359,2314	359,4114	359,4358
α	-0,6842	-0,6871	-0,6909	-0,6842	-0,6785	-0,6385	-0,5428	-0,3628	-0,3384
$[\alpha]_D$	-34,21	-34,35	-34,55	-34,31	-33,93	-31,93	-27,14	-18,14	-16,92

Tab. 2

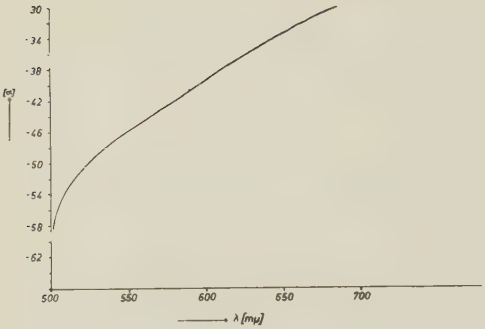


Abb. 1

Abb.1 Rotationsdispersion von N^{ε}-[β-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin in 0.2 M NaCl-Dioxan (2:1)

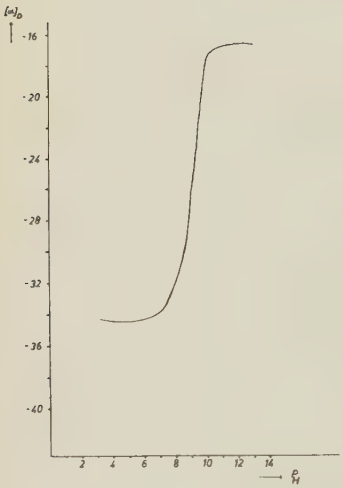


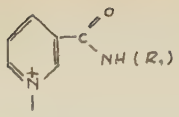
Abb. 2

Abb. 2 p_H-Abhängigkeit der spezifischen Drehung obiger Verbindung in 0.2 M NaCl-Dioxan (2:1)

III. Synthese der Pyridinioverbindungen

Ganz allgemein stellt man N^1-Pyridinderivate durch Alkylierung des Ringstickstoffs mit Alkylhalogeniden bzw. ω-Halogencarbonsäuren dar. Derartige Pyridinioverbindungen, die sich durch den Rest R am N^1 oder auch durch unterschiedliche Substitution am Ring unterscheiden, sind schon mehrfach beschrieben worden (14,15,16), wobei die Autoren die entsprechenden Jodide und Bromide bevorzugten. Hier wurden jedoch im Hinblick auf die Synthese der Pyridiniopeptide hauptsächlich die Chloride benutzt. Eine Ausnahme bildet das 3-Carbamoylpyridinio-ß-oxy-γ-chlorpropan-bromid, daß aus Nicotinsäureamid und α-Brom-γ-chlorhydrin erhalten wurde. Bei der Alkylierung mit dem α,γ-Dichlorhydrin hatte sich nämlich gezeigt, daß vorwiegend die Dipyridinioverbindung gebildet wurde, was durch Ausnutzung der unterschiedlichen Reaktionsfähigkeit von Chlor und Brom im α-Brom-γ-chlorpropan vermieden werden konnte.

Die in Tabelle 3 aufgeführten Verbindungen wurden durch mehrstündiges Erhitzen des Nicotinsäureamids bzw. -methylamids mit ß-Chlorpropionsäure, ß-Chlorpropion-säuremethylester, Chloressigsäure bzw. α-Brom-γ-chlorhydrin in Alkohol erhalten. Die Pyridinioverbindungen sind in Wasser leicht löslich, in Methanol löslich, in Aethanol und Amylalkohol schwer löslich. Sie lassen sich aus Alkohol umkristallisieren.



Nr			Fp.	
1	R_1 = H	R_2 = $-CH_2-CH_2-COOH$	211°C	(Z)
2	R_1 = H	R_2 = $-CH_2-CH_2-COOCH_3$	197-199°C	
3	R_1 = CH_3	R_2 = $-CH_2-CH_2-COOH$	189-191°C	
4	R_1 = H	R_2 = $-CH_2-CH(OH)-CH_2-Cl$	179-180°C	(Z)
5	R_1 = H	R_2 = $-CH_2-COO^{(-)}$	186°C	(Z)

Tab. 3

IV. Pyridiniopeptide

a. Synthese

Wie bereits ausgeführt, wurden N^1-substituierte Pyridinioderivate durch Alkylierung des Ringstickstoffs mit geeigneten Halogenverbindungen hergestellt, wobei eine Quarternierung des Ringstickstoffs erfolgt. Derartige Verbindungen sind als Pyridinio-Verbindungen zu bezeichnen, wobei -bromid, -chlorid, am Ende des Namens der Verbindung, das zum quarternären Stickstoffkation gehörige Anion ist.

Eine direkte Verknüpfung von Aminosäuren und Peptiden mit dem Ringstickstoff ist jedoch nicht möglich. Man muß daher als verknüpfendes Glied eine Verbindung heranziehen, die einmal die Quarternierung des Ringstickstoffs durch Alky-

lierung, zum anderen die Verknüpfung mit der Aminosäure bzw. dem Peptid gestattet. Die verbindende Rolle können Halogencarbonsäurechloride übernehmen, die für sich allein sehr leicht mit Pyridin-Derivaten in der oben erwähnten Art reagieren. Wegen der Unbeständigkeit der Pyridinioverbindungen gegen Säuren und Alkalien sowie der geringen Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, ist die Zahl der Synthesemöglichkeiten, besonders mit den Methoden der Peptidsynthese, eng begrenzt. Im folgenden sind Wege angegeben, die sich zur Synthese der Pyridiniopeptide als anwendbar erwiesen haben.

a_1) Zunächst stellt man das mit dem Pyridinring zu verknüpfende Peptid nach dem üblichen Verfahren her, setzt die freie Aminogruppe der endständigen Aminosäure mit Chloracylchlorid um und alkyliert dann mit dem so erhaltenen Chloracylpeptid bzw. -aminosäure den Ringstickstoff des Pyridinderivates in indifferenten wasserfreien nicht zu tief siedendem Lösungsmittel durch längeres Erhitzen unter Rückfluß. Mit zunehmender Länge des Peptidrestes verläuft die Alkylierung langsamer und mit schlechteren Ausbeuten.

a_2) Das läßt sich jedoch umgehen, indem man einen Teil des N-endständigen Peptids chloracyliert, dann die Alkylierung vornimmt und den C-endständigen Teil des Peptids nach der Carbodiimidmethode kuppelt.

b) Man alkyliert zuerst die Pyridinverbindung mit einer ω-Chlorcarbonsäure zur entsprechenden Pyridiniocarbonsäure und kuppelt nach der Carbodiimidmethode.

Die Kupplung nach der Carbodiimidmethode von I.C.SHEEHAN (20) muß dabei so modifiziert werden, wie sie schon weiter vorn beschrieben wurde. Danach verwendet man wäßriges Py-

ridin mit einem H_2O-Gehalt von 25-35% je nach Löslichkeit der Ausgangskomponenten in dem einen oder anderen Lösungsmittel. Man muß darauf achten, daß beim Zusammengießen der Ausgangslösungen klare Reaktionslösung erhalten wird. Im Falle der Kupplung mit einer Pyridiniokomponente ist die Peptidkomponente als Hydrochlorid zu verwenden, da sonst eine Abspaltung von HBr-Halogenwasserstoff aus der Pyridinkomponente unter Bildung des entsprechenden Betains erfolgen kann.

Die Darstellung folgender Pyridinio-Verbindungen werden im experimentellen Teil beschrieben (Reaktionsschema S. 21):

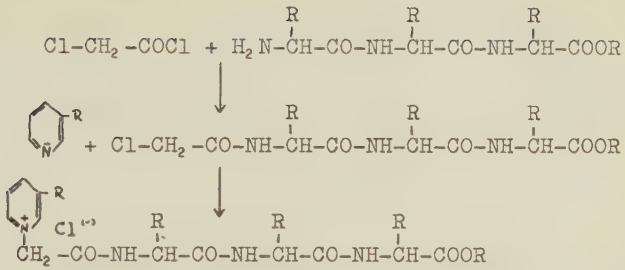
I. 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-chlorid durch Alkylierung von Nicotinsäureamid mit Chloracetylglycylglycin in abs. Aethanol durch Kochen am Rückfluß

II. 3-Carbamoylpyridinioglycylglycyl-L-Phenyl-alanin-äthylester-chlorid durch Kupplung von (I) und L-Phenylalaninäthylesterhydrochlorid mit Carbodiimid, sowie durch Alkylierung von Nicotinsäureamid mit Chloracetylglycylglycyl-L-Phenylalaninäthylester in abs. Aethanol

III. 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycyl-L-Tyrosinäthylester-chlorid analog II

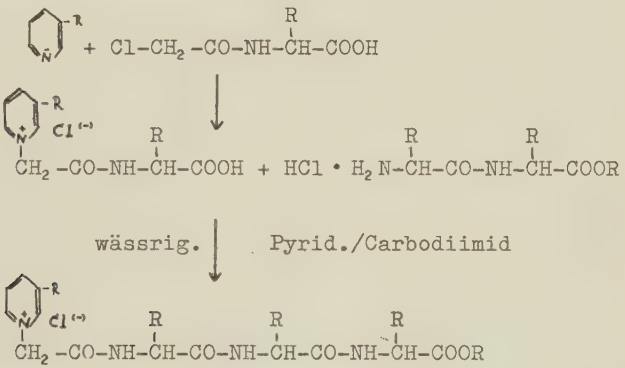
IV. 3-Carbamoylpyridinioglycylglycyl-L-alaninmethylester-chlorid durch Kupplung von (I) und L-Alaninäthylesterhydrochlorid mit Dicyclohexylcarbodiimid

a$_1$)



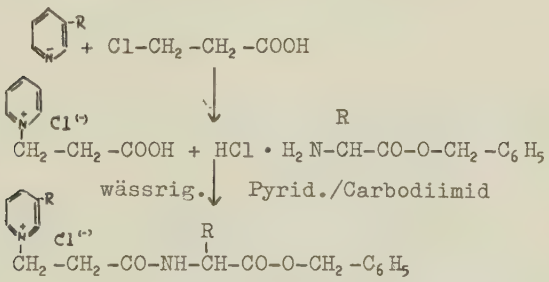
---

a$_2$)



---

b)



V. 3-Carbamoylpyridiniopropionylglycin-benzylesterchlorid aus 3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid und Glycinbenzylester-hydrochlorid mit Dicyclohexylcarbodiimid.

b. UV-Absorptionsmessungen der Cyanidanlagerung

Von den Reaktionen der Pyridinio-Verbindungen ist die mit KCN wohl die wichtigste.

O. MEYERHOF, P. OHLMEYER und W. MOHLE (26) konnten zeigen, daß Diphosphorpyridiniumnucleotid (DPN^+) mit Cyanid und Bisulfit unter "Komplexbildung" reagiert und ein Absorptionsspektrum liefert, daß dem des enzymatischen Reduktionsproduktes von DPN^+ analog ist. S.P. COLOWICK, N.O. KAPLAN, M.M. CIOTTI fanden die Aldehydoxydase-Hemmung durch Cyanid-Zugabe. Sie stellten darüber hinaus fest (27), daß diese Cyanidanlagerung eine Reaktion ist, die alle Pyridiniooverbindungen eingehen und gaben eine Methode an, DPN^+-Verbindungen quantitativ zu bestimmen. Gleichzeitig konnten sie zeigen, daß es sich bei der Anlagerung um eine Gleichgewichtsreaktion handelt, die Konzentrations-, Lösungsmittel- und p_H-abhängig ist. A. SAN PIETRO (28) hat die KCN-Anlagerung an Pyridinioverbindungen in D_2O durchgeführt. Da ein Austausch von H gegen D nur in γ-Stellung des Pyridinringes und nicht in α,α'-Stellung erfolgte, war die 1,4-Addition für diese Reaktion bewiesen.

N.O. KAPLAN, R.M. BURTON, M.R. LAMBORG (29) haben die CN-Addition für eine größere Anzahl von N^1-Methylpyridiniumjodiden untersucht und beim Arbeiten mit konzentrierteren Cyanidlösungen höhere Umsatzraten erzielt. Sie fanden außer-

dem, daß letztere vom Substituionstyp abhängig sind.

K. WALLENFELS und H. SCHUELY (16) haben die Anionen-Addition bei DPN^+-Modellen untersucht und speziell die CN-Addition an Dichlorbenzylpyridinioverbindungen zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht, die zur Isolierung der Additionsverbindungen führte.

Dabei fanden sie, daß die langwellige, bei 360 mμ liegende Dihydroband in verschiedenen Lösungsmitteln unterschiedliche Extinktionen aufweist und weiter, daß die Absorptionskurven für verschiedene CN-Konzentrationen sowie Lösungsmittel im gleichen Koordinatensystem aufgetragen, alle einen bzw. zwei Punkte gleicher Wellenlänge und gleicher Extinktion besitzen.

Diese Punkte, isosbestische Punkte, liegen im Falle unterschiedlicher CN-Konzentration bei 249 und 285 mμ (30), im Falle der Variation des Lösungsmittels bei 280-290 mμ.

Nach H.L. SCHAEFER und O. KLING (31) ist das Auftreten isosbestischer Punkte ein Hinweis für das Vorliegen stöchiometrischer Beziehungen einer eindeutig definierten Zeitreaktion bzw. eines solchen Gleichgewichts. Folge- und Nebenreaktionen stören diese Beziehung und machen sich durch das Verschwinden isosbestischer Punkte bemerkbar.

Im folgenden wird nun über eigene Messungen berichtet, bei denen die KCN-Anlagerung in Abhängigkeit von der Zeit spektral verfolgt wurde. Alle Messungen wurden mit einem Beckmann DK 2 -Spektrophotometer in 3,5 ml Quarzküvetten der Schichtdicke 1 cm ausgeführt.

Die hier aufgeführten Verbindungen laufen in den Messungen unter den Bezeichnungen:

Nr.	Verbindung	Bez.
1.	3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid	F 22
2.	3-Carbamoylpyridinioacetyldiglycyl-L-phenylalaninäthylester-chlorid	PP 7
3.	3-Carbamoylpyridinioacetyldiglycyl-L-tyrosinäthylester-chlorid	PP 8
4.	3-Carbamoylpyridinioacetyldiglycyl-L-alaninmethylester-chlorid	PP 9

MESSBEDINGUNGEN:

Bez.	mg/25 ml H_2O	Mol/Ltr	Küvettenfüllung Meßstrahl	Vergleichsstrahl
F 22	6,03	$1{,}05\ 10^{-3}$	0,5 ml F 22 0,5 ml (1 M)KCN 2,5 ml H_2O	0,5 ml (1 M)KCN + 2,5 ml H_2O
PP 7	12,63	$1{,}00\ 10^{-3}$	0,5 ml PP 7 0,5 ml (1 M)KCN 2,5 ml H_2O	"
PP 8	13,32	$1{,}02\ 10^{-3}$	0,5 ml PP 8 0,5 ml (1 M)KCN 2,5 ml H_2O	"
PP 9	10,38	$1{,}00\ 10^{-3}$	0,5 ml PP 9 0,5 ml (1 M)KCN 2,5 ml H_2O	"

Tab. 3

In den Abb. 3-6 sind die UV-Spektren, darunter die dazugehörigen, zu verschiedenen Zeiten abgelesenen λ_{Max} - und E = log Io/I - Werte wiedergegeben.

Man ersieht daraus, daß der Verlauf der Cyanidanlagerung von dem am Ringstickstoff befindlichen Rest abhängig ist und der Acetylpeptidrest eine Sonderstellung einnimmt.

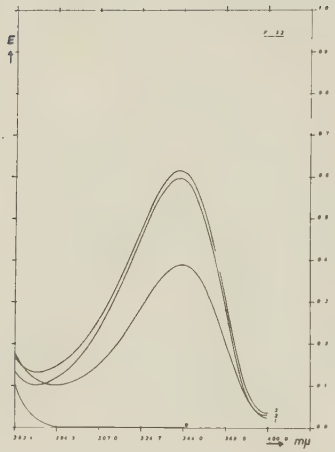
Bei F 22 tritt sofort die Dihydrobande bei 343 mμ auf, die Extinktion erreicht bereits nach 8 Minuten einen konstanten Wert.

Bei PP 7 erfolgt eine Verschiebung von λ_{Max} nach höheren Wellenlängen hin, die Extinktion durchläuft ein Minimum, es bildet sich ein isosbestischer Punkt aus. (λ_{IP} = 304,2 mμ; E = 0,385)

Bei PP 8 erfolgt eine Verschiebung von λ_{Max} nach höheren Wellenlängen hin unter gleichzeitiger Zunahme der Extinktion. Hier liegen 2 isosbestische Punkte vor (λ_{IP} = 304,2 mμ; E_{IP} = 0,669 und λ_{IP} = 332 mμ; E_{IP} = 0,900).

Bei PP 9 erfolgt eine Verschiebung von λ_{Max} nach höheren Wellenlängen hin, die Extinktion durchläuft ein Maximum. Es liegen 2 isosbestische Punkte vor (λ_{IP} = 304,2 mμ; E_{IP} = 0,385 und λ_{IP} = 342,2; E_{IP} = 0,760)

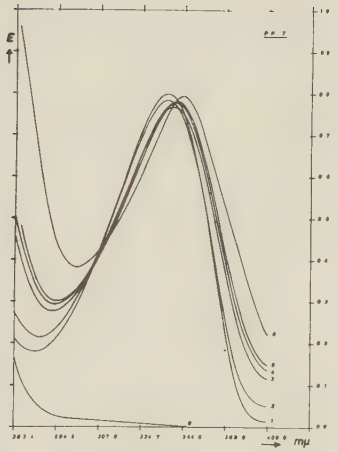
Weitere, hier nicht aufgeführte analoge Messungen ergaben, daß die im experimentellen Teil beschriebenen Pyridiniumverbindungen entweder nach F 22 oder nach den PP-Substanzen mit 1 M KCN-Lösung reagieren. Zu den PP-Substanzen gehören solche, die einen Acetylpeptidrest am Ringstickstoff tragen. Zu den Substanzen vom Typ F 22 gehören solche, die



F 22

Abb. 3

Min nach KCN Zugabe	λ_{Max} (mμ)	E = log Io/I
0	-	-
2	343	0,390
4	343	0,598
6	343	0,613
8	343	0,613



PP 7

Abb. 4

Min nach KCN Zugabe	λ Max (mμ)	E = log Io/I
0	-	-
1	335,3	0,800
10	335,3	0,783
15	338,6	0,768
25	339,4	0,779
35	342,5	0,780
45	343,5	0,797

Isosbestischer Punkt:

λ_{IP} = 304,2 E_{IP} = 0,385

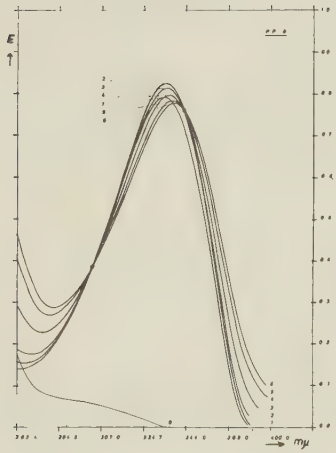
PP 8

Abb. 5

Min nach KCN Zugabe	λ_{Max} (mμ)	E = log Io/I
0	-	-
1	334,3	0,951
10	337,2	0,930
15	339,0	0,931
25	341,0	0,946
35	342,0	0,962
45	343,0	0,992
55	344	1,000

Isosbestischer Punkt 1. λ_{IP} = 304,2 E_{IP} = 0,669

2. λ_{IP} = 332,0 E_{IP} = 0,900



PP 9

Abb. 6

Min nach KCN Zugabe	λ Max (mμ)	E = log Io/I
0	-	-
1	333,1	0,790
5	333,5	0,824
15	334,2	0,813
40	335,6	0,797
65	337,2	0,781
90	338,2	0,778

Isosbestischer Punkt: 1. λ_{IP} = 304,2 E_{IP} = 0,385

2. λ_{IP} = 342,2 E_{IP} = 0,760

einen Propionsäure-, Propionsäureester-, Acetatrest am Ringstickstoff tragen.

Einen weiteren Unterschied der Anionenaddition zeigen am Ringstickstoff acetylpeptidrestetragende Pyridinioverbindungen, wenn man die KCN-Anlagerung in Gegenwart von Chinon durchführt. Rein qualitativ gesehen wurden folgende Ergebnisse erhalten.

1. Die Anwesenheit von Chinon unterbindet die Ausbildung isosbestischer Punkte bei 304,2 mμ und 340 mμ.

2. Erfolgt bei der Füllung der Küvetten die Zugabe des KCN als letzte Komponente, so tritt unmittelbar mit der Zugabe des KCN eine sich verstärkende Rotfärbung auf, die wieder abklingt und schließlich verschwindet.

3. Erfolgt bei der Füllung der Küvetten erst die KCN- , dann die Chinonzugabe, so unterbleibt die Rotfärbung; man erhält sofort die sich verstärkende gelbe Farbe der Dihydroverbindung.

4. In 1-3 läßt sich Chinon durch Hydrochinon ersetzen.

5. Arbeitet man sauerstoffrei, bleibt die Rotfärbung erhalten, Chinon läßt sich nicht durch Hydrochinon ersetzen.

6. Die F 22-Verbindungen geben die normale KCN-Addition, sie zeigen keine Rotfärbung.

Quantitative Messungen - die Meßbedingungen sind in Tab. 4 wiedergegeben - zeigen, daß die Absorptionsbande der Rotfärbung für PP 7 und 9 bei 515 mμ und für PP 8 bei 510 mμ liegt. In den Abb. 7-9 sind die Absorptionskurven im Be-

Bez.	mg/25 ml H_2O	Mol/Ltr	Küvettenfüllung	
			Meßstrahl	Vergleichsstrahl
F 22	6,03	$1{,}05\ 10^{-3}$	0,5 ml F 22 0,5 ml Chinon ($1{,}0\ 10^{-3}$M) 2,0 ml H_2O 0,5 ml (1 M)KCN	0,5 ml (1M) KCN 0,5 ml Chinon ($1{,}0\ 10^{-3}$M) 2,0 ml H_2O
PP 7	12,63	$1{,}00\ 10^{-3}$	0,5 ml PP 7 0,5 ml Chinon ($1{,}0\ 10^{3}$M) 2,0 ml H_2O 0,5 ml (1 M)KCN	"
PP 8	13,32	$1{,}02\ 10^{-3}$	0,5 ml PP 8 0,5 ml Chinon ($1{,}0\ 10^{-3}$M) 2,0 ml H_2O 0,5 ml (1 M)KCN	"
PP 9	10,38	$1{,}00\ 10^{-3}$	0,5 ml PP 9 0,5 ml Chinon ($1{,}0\ 10^{-3}$M) 2,0 ml H_2O 0,5 ml (1 M)KCN	"

Tab. 4

reich von 600–400 mμ wiedergegeben, wobei die obere Kurve unmittelbar nach Zugabe von KCN als letzte Komponente der Küvettenfüllung aufgenommen wurde. Die Kurven mit sinkender Extinktion wurden in Abständen von 2 Minuten aufgenommen. Die Abb. 10 zeigt die Abnahme der Extinktion von = 515 bzw. 510 mμ in Abhängigkeit von der Zeit.

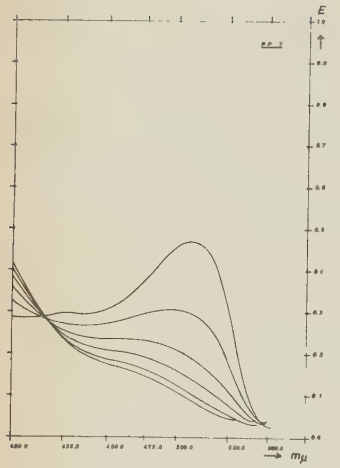


Abb. 7

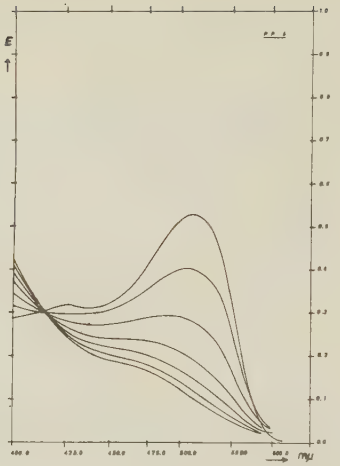


Abb. 8

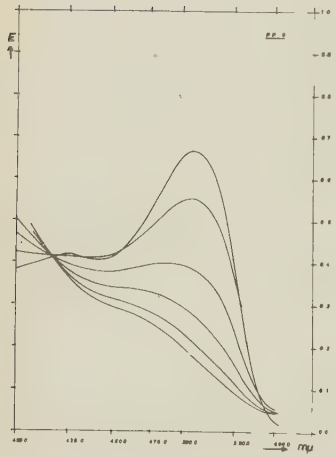


Abb. 9

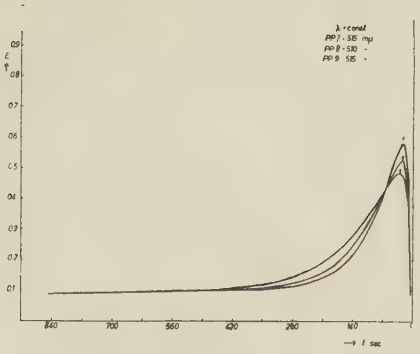
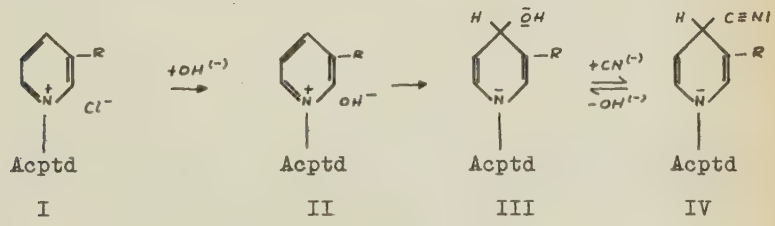


Abb. 10

Man ersieht, daß nach 10 Minuten die Extinktion einen fast konstanten bei E = 0,1 liegenden Wert erreicht hat. Die Messungen dagegen bei O_2 Abwesenheit geben ein konstant bleibendes Extinktionsmaximum.

Der zu den anderen Pyridinioverbindungen unterschiedliche Verlauf der Anionenaddition bei den Pyridinioacetylpeptiden läßt sich erklären, wenn man folgenden, durch Anwesenheit eines Acetylpeptidrestes am Ringstickstoff begünstigten Reaktionsmechanismus annimmt:



Infolge alkalischer Reaktion wässriger Cyanidlösungen, entstehen aus dem Pyridinioacetylpeptidsalz I zunächst die Base II, die sich in die Form III umlagert. Durch Austausch von OH gegen CN gelangt man zu dem Cyanidadditionsprodukt. III und IV stehen im Gleichgewicht, was zur Ausbildung isosbestischer Punkte (s. Abb. 4-6) führt. Dieses Gleichgewicht wird durch Chinon gestört, indem es III in ein dem Wursterschen Rot analoges Radikal überführt. (V)

Dieses Radikal wird durch Luftsauerstoff abgefangen, bleibt dagegen beständig, wenn man sauerstoffrei arbeitet.

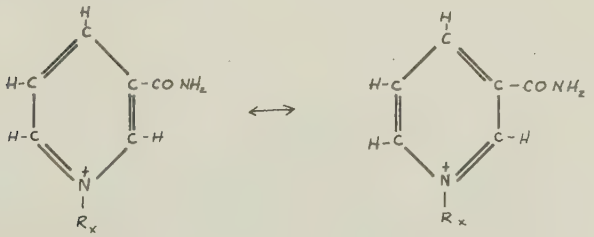
Daß Hydrochinon unter Luftabschluß diese Reaktion nicht gibt, beweist, daß bei O_2-Anwesenheit ein Teil des Hydrochinons zum Chinon oxydiert worden ist.

Acptd = Acetylpeptidrest

V. Infrarotspektren von Pyridinioverbindungen

Die IR-Spektren von Pyridin und substituierten Pyridinen sind vielfach untersucht worden. Beide unterscheiden sich in ihren C=C, C=N und CH-Valenzschwingungen vom Benzol oder den substituierten Benzolen nur geringfügig. Beträchtliche Unterschiede treten dagegen in den CH-Deformationsschwingungen auf. Die Lage dieser CH-Deformationsschwingungen im aromatischen System ist von der Anordnung, d.h. vom Substitutionstyp abhängig. Beim Vergleich der Spektren substituierter Benzole mit denen des Pyridins wurde festgestellt (32), daß sich z.B. ein 3-substituiertes Pyridin wie ein meta-substituiertes Benzol verhält, entsprechend einer Anordnung von 3 benachbarten und 1 isolierten CH-Gruppen.

Die hier untersuchten Verbindungen - die wichtigsten Banden sind tabellarisch in Tab. 5-7 erfaßt, die Spektren in Abb. 11-13 wiedergegeben - sind 3-substituierte Pyridine, die durch Alkylierung des Ringstickstoffs in Pyridinioverbindungen übergeführt wurden. Dabei ändert sich der Substitutionstyp nicht, jedoch wird eine Aenderung des aromatischen Systems erfolgen, die letztlich zu einem konjugierten, disubstituierten Olefin mit cis-Konfiguration an den nicht substituierten C-Atomen 4,5 bzw. 5,6 führt; für das C 3 und ein benachbartes C-Atom tritt die Konfiguration eines trisubstituierten Olefins auf.



Von den beiden mesomeren Formen lassen sich zwei disubstituierte cis-Konfigurationen und zwei trisubstituierte Konfigurationen ableiten, die sich in ihren Resten R unterscheiden.

I II III IV

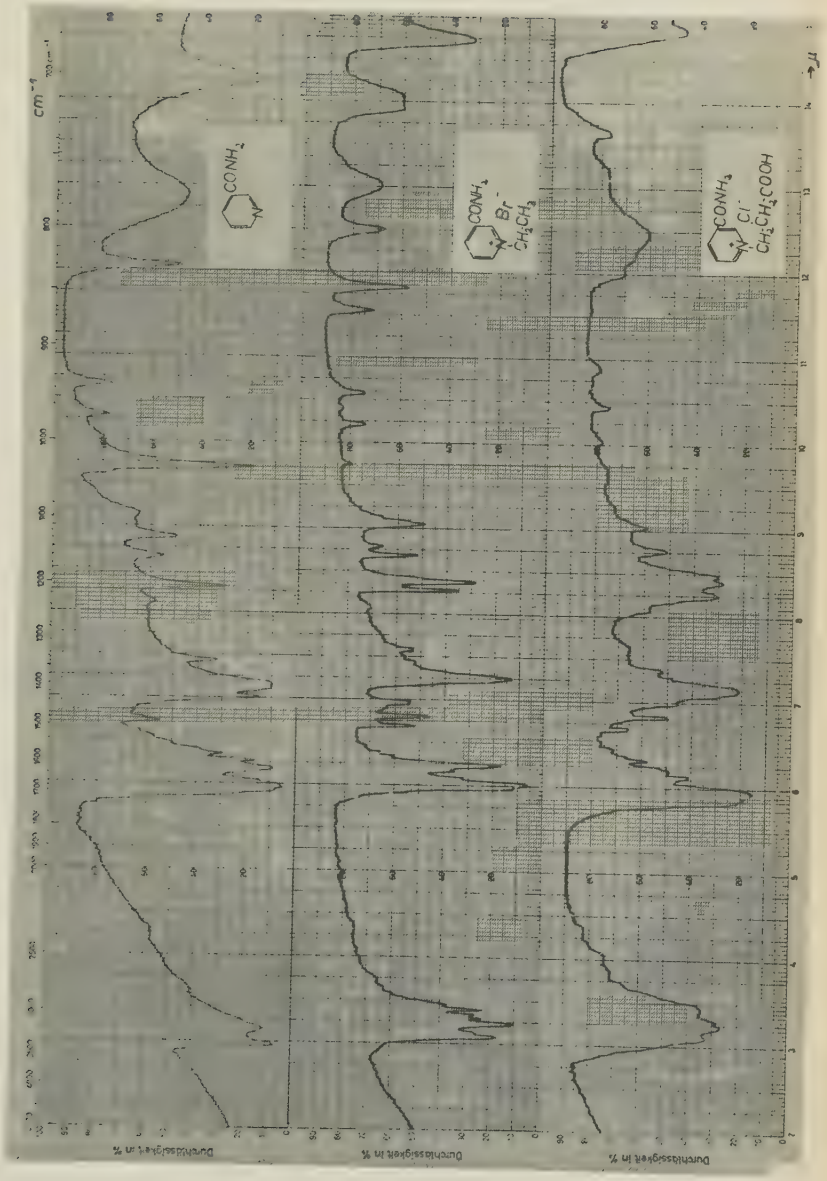
Danach sollte man für jede der Formen I-IV eine CH-Bande im Gebiet der Waggingschwingungen finden.

Infrarotspektroskopische Untersuchungen an Pyridiniumverbindungen sind in der Literatur sehr rar und beziehen sich hauptsächlich auf die Salzbildung.

Nach H.M. RANDALL, R.C. FOWLER, N.FUSON, I.R.DANGL (33) liegt die Bande der C=N-Gruppe in Pyridinen bei 6,24-6,28 µ. Nach WITKOP (34) verschiebt sich diese Bande bei der Salzbildung nach kürzeren Wellenlängen hin und liegt bei 6,07-6,13 µ. Die IR-Absorption des Kations äußert sich durch eine oder mehrere Banden im Gebiet von 4,5-5,5 µ und durch das Auftreten einer breiten Ammoniumbande bei 4,0-4,3 µ.

Die 4,5-5,5 µ Banden von WITKOP "Immoniumbanden" genannt, sind charakteristisch für Salze von offenen und cyclischen Iminen, Heterocyclen wie Pyridin und Chinolin eingeschlossen.

In Tabelle 5 sind die Bandenmaxima und in Abb. 11 die Spektren von


CONH2
CONH2
Br
CH2CH3
CONH2
Cl
CH2CH2COOH
cm-1
Durchlässigkeit in %

a b c

Abb. 11

a = Nicotinsäureamid

b = 3-carbamoylpyridinioäthyl-bromid

c = 3-carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid

gegenübergestellt.

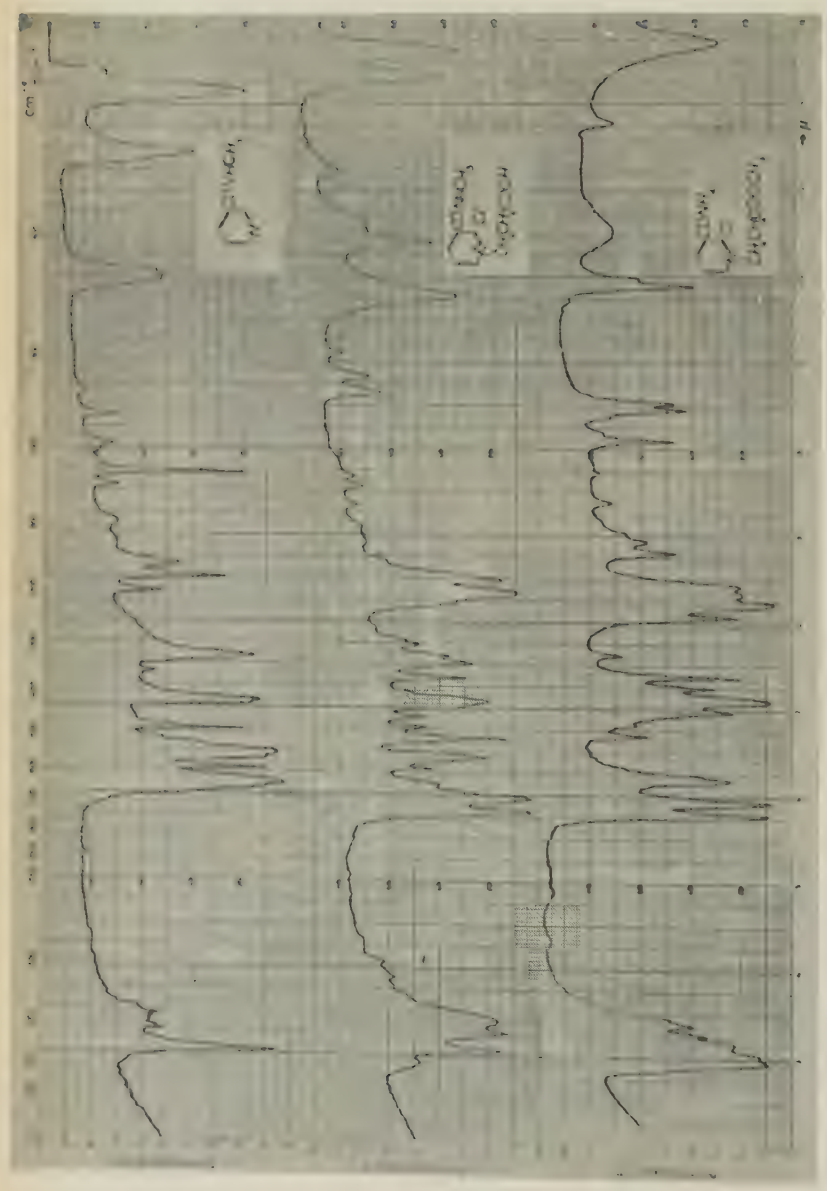
Wegen der Anhäufung und Ueberlagerung der IR-Absorptionen verschiedenster Gruppen, z.B. Amidbanden, COOH-, CH_2-, CH_3-Deformationsschwingungen, im Gebiet zwischen 6-8 u und der Anhäufung und Ueberlagerung der CH_2-, CH_3, C=C-NH-Valenzschwingungen im Gebiet von 3-3,7 µ ist es schwierig, eindeutige Aussagen zu machen, besonders im Hinblick auf Verschiebung von C=C und C=N Banden nach kürzeren Wellenlängen hin. Es verbleibt zunächst das Gebiet der CH-Deformationsschwingungen, deren Aenderungen beim Uebergang zur Pyridiniumverbindung diskutiert werden soll.

a) Die hier auftretenden sehr starken Deformationsschwingungen bei 14,25; 8,30 besonders aber bei 9,70 µ sind im Spektrum b), dem einer relativ einfachen Pyridiniumverbindung, und im Spektrum c) nicht vorhanden, d.h. der Substitutionstyp eines 3-substituierten Pyridins und damit der aromatische Charakter gehen verloren. In b) tritt dafür eine Doppelbande bei 11,82 und 11,55 µ auf, die den CH-Waggingschwingungen trisubstituierter Olefine zugeordnet wird. (III + IV) Die Bande bei 14,72 µ und eine zweite breite Bande bei 14 µ werden den CH-Waggingschwingungen der beiden disubstituierten cis-konfigurierten Olefine zugeordnet. (I + II) c) bringt die letzteren bei 13,65 und 14,85 u.

Ganz analoge Uebergänge der Pyridin- in die Pyridiniumstruktur findet man bei den in der Tab. 6 gegenübergestellten Banden maxima und in Abb. 12 a - c wiedergegebenen

Tabelle 5 der IR-Spektren a-c

a		b		c	
µ	cm^{-1}	µ	cm^{-1}	µ	cm^{-1}
2,96	3378				
		3,07	3257		
				3,10	3226
3,15	3175				
		3,23	3096	3,23	3096
		3,29	3040	3,29	3040
		3,39	2950	3,41	2933
5,96	1678			5,95	1681
		6,0	1667		
6,16					
		6,24	1603		
6,26	1597				
		6,68	1497	6,68	1497
6,71	1490				
		6,80	1471	6,81	1468
		6,96	1437		
7,0	1429				
7,15	1399			7,15	1399
		7,25	1379		
7,44	1344				
				8,24	1214
				8,29	1206
8,30	1205				
		8,38	1193	8,39	1192
				8,47	1181
8,64	1157				
		8,67	1153		
8,87	1127				
		9,05	1105	9,04	1106
9,70	1031				
		10,21	980		
10,30	971				
		10,57	946		
10,66	939				
		11,55	866		
		11,82	841		
12,05	830				
		12,5	800		
12,9	775				
		13,0	769		
				13,65	
		14	714		
14,25	702				
		14,72	680	14,85	



a b c

Abb. 12

Spektren. Dabei ist

a = Nicotinsäuremethylamid
b = 3-Methylcarbamoylpyridiniopropionsäurechlorid
c = 3-Carbamoylpyridiniopropionsäuremethylesterchlorid.

Auchhier gehen beim Uebergang von a) nach b) bzw. c) die CH-Deformationsschwingungen bei 14,15 µ, 8,30 u und besonders eindeutig bei 9,72 µ verloren. Dafür treten in b)die beiden Doppelbanden der CH-Waggingschwingungen für disubstituierte, cis-konfigurierte Olefine (14,32 µ, 14,62 µ) und trisubstituierte Olefine (11,77 µ 12,38 u) auf. In c) kann jeweils 1 Bande für die entsprechenden CH-Waggingschwingungen, nämlich 11,88 µ trisubst. Olef. und 14,70 µ disubstituierten cis-konf., eindeutig festgelegt werden. Die dazugehörigen zweiten Banden sind zu wenig ausgeprägt.

Aussagen über die Aenderung der Lage der C-N-Banden lassen sich nur ungenau machen, da hier eine Anhäufung und Ueberlagerung von Banden verschiedenster Herkunft vorliegt. Die Alkylierung und damit Quarternierung des Ringstickstoffs führt nicht zur Ausbildung von Banden, im Bereich 4-5 µ, indem die Absorptionen der von WITKOP beschriebenen Ammonium- bzw. Immoniumstrukturen liegen.

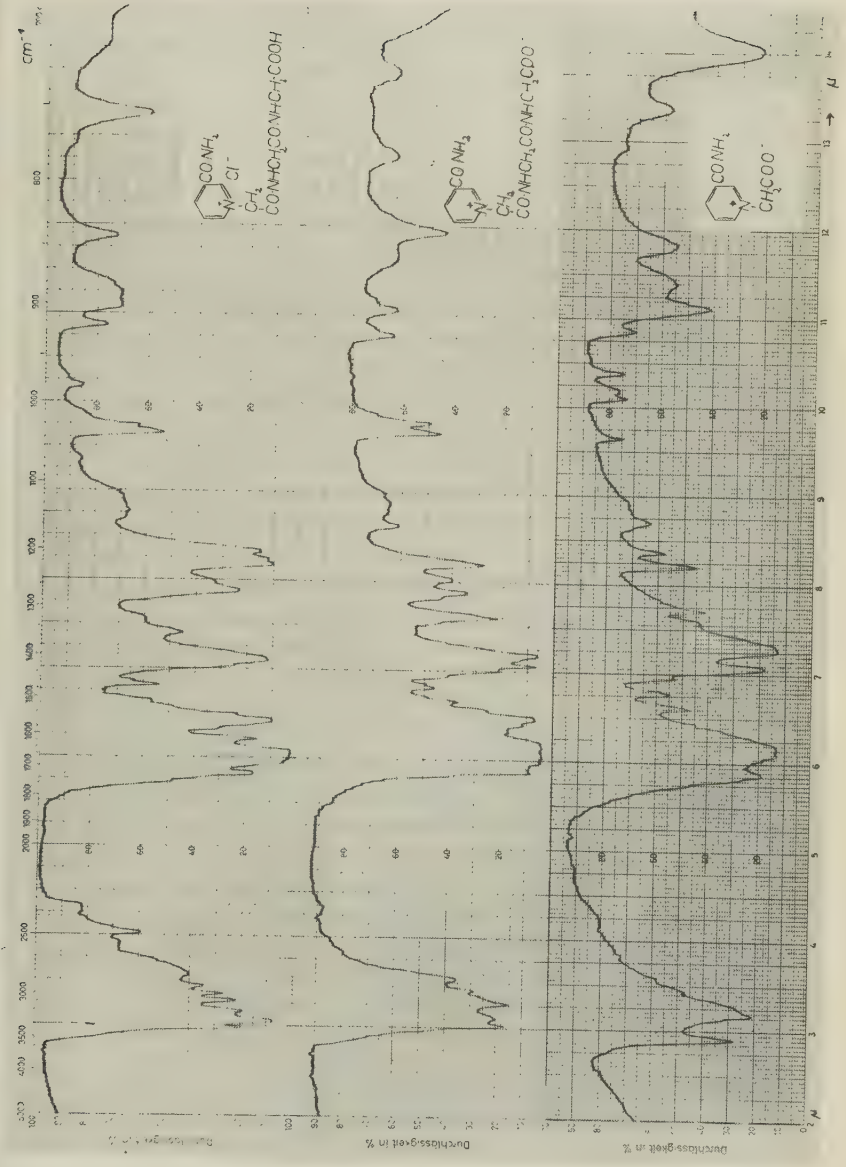
In der Tabelle 7 sind die wichtigsten Bandenmaxima und in Abb. 13 a-c die Spektren von:

a = 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-chlorid
b = 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-betain
c = 3-Carbamoylpyridinioessigsäure-betain

wiedergegeben.

Tabelle 6 der IR-Spektren a-c

a		b		c	
μ	cm^{-1}	μ	cm^{-1}	μ	cm^{-1}
				2,95	3390
3,04	3289	3,05	3279	3,04	3289
				3,23	3096
		3,26	3058	3,25	3077
				3,37	2997
		3,4	2941		
				3,45	2899
		5,79	1727	5,78	1730
				5,93	1686
		5,96	1678		
6,11	1637	6,11	1637		
				6,18	1618
6,29	1590	6,29			
		6,42			
6,45	1550				
		6,64	1506		
				6,69	1495
6,74	1484				
		6,78	1497		
		6,89	1451		
				6,97	1435
7,07	1414	7,07	1414	7,09	1410
				7,24	1381
		7,35	1361		
		7,51	1332		
7,60	1316	7,60	1316	7,60	1316
				8,05	1242
		8,22	1217	8,22	1217
8,33	1200	8,33	1200	8,32	1202
				8,42	1188
		8,48	1179		
8,50	1176				
8,60	1155				
				8,80	1136
9,72	1029				
				10,08	993
10,39	962				
				10,45	958
				10,53	949
		10,65	938		
		10,84	923		
		11,77	850		
				11,88	842
12,0	833				
		12,38	816		
				12,5	800
		13,25	754		
13,45	744				
14,15	709				
		14,32	698		
		14,63	684		
				14,70	680


cm⁻¹
Durchlass-grad in %
CONH₂
Cl⁻
CH₂
CONHCH₂CONHCH₂COOH
CONH₂
CH₂
CONHCH₂CONHCH₂COO⁻
CONH₂
CH₂COO⁻
μ

a b c

Abb.13

Die Verbindung b) wurde erhalten beim Versuch, a) mit freiem L-Phenylalaninäthylester in wäßrigem Pyridin nach der Carbodiimidmethode zu kuppeln (s.S.54) . C entstand bei der Reaktion von Nicotinsäureamid mit Chloressigsäure in der Schmelze (s.S.56).

Die ionisierten Carboxylgruppen von b) und c) sind nicht völlig gleichwertig, da es sich einmal um eine $COO^{(-)}$-Gruppe einer Aminosäure bzw. eines Peptids handelt und im geringen Maße immer zu finden ist (d.h. auch in a)), während in c) eine ionisierte Carboxyl-Gruppe einer Carbonsäure vorliegt.

Beim Vergleich von a) mit b) erkennt man, daß die Bande bei 6 µ eine Verbreiterung erfährt, hervorgerufen durch das Auftreten einer starken $COO^{(-)}$-Bande. Die Amidbande II (6,41 µ) hat in a) auf der Seite der größeren Wellenlänge eine Schulter (geringe Ionisation der COOH-Gruppe), die sich in b) zu einer Bande ausprägt (6,45 µ) und nun ihrerseits die Amidbande II als Schulter auf der Seite der kürzeren Wellenlänge trägt. Eine gemeinsame Absorption von b) und c) liegt bei 7,05 µ vor.

Die Spektren wurden mit einem Leitz Infrarotspektrographen vollautomatisch registriert. Die Substanzen lagen als KBr-Preßlinge von 20 mm Durchmesser bei einer Konzentration von 2,1 mg Substanz auf 700 mg KBr vor.

Tabelle 7 der IR-Spektren a-c

a		b		c	
μ	cm^{-1}	μ	cm^{-1}	μ	cm^{-1}
				2,90	3448
2,96	3378				
3,05	3279	3,05	3279		
		3,10	3226		
3,16	3165			3,17	3155
3,27	3058	3,27	3058		
3,35	2985	3,35	2985		
3,44	2907	3,42	2924		
		3,54	2825		
3,57	2801				
4,02	2488				
4,30	2326				
5,82	1718			5,82	1718
		5,85	1709	5,86	1706
5,94	1684	5,96	1678	6,08	1645
- 6,1	1639	- 6,21	1610	- 6,21	1610
6,21	1610				
		6,38	1567		
6,41	1560				
		6,45	1550		
				6,6	1515
				6,77	1477
6,8	1471	6,8	1471	6,8	1471
		7,05	1418	7,05	1418
7,10	1408				
		7,18	1393		
				7,26	1377
7,40	1351				
		7,59	1318		
		7,70	1299		
7,87	1271	7,87	1271		
8,03	1245				
8,17	1224				
		8,20	1220	8,20	1220
8,25	1212				
8,32	1200			8,35	1198
		8,63	1159	8,64	1157
9,65	1036				
		9,67	1034	8,69	1151
9,75	1026	9,78	1022		
				10,09	992
				10,19	982
				10,37	965
10,77	927				
10,87	919				

a		b		c	
μ	cm^{-1}	μ	cm^{-1}	μ	cm^{-1}
11,06	908	11,06	908		
11,25	888			11,12	880
				11,40	
				11,84	878
11,87	842				
		11,93	839	11,93	839
		12,80	781		
13,25	754				
				13,35	749
		13,75	726		
				14	713

VI. Experimenteller Teil

Poly-L-lysin

Die Methode der Poly-L-lysin-Darstellung von M. BERGMANN, ZERVASS und ROSS (17) sowie E. KATCHALSKI, I. GROSSFELD und M. FRANKEL (18) wurde teilweise abgewandelt. ε,α-Dicarbobenzoxy-L-lysin durch Behandeln mit $SOCl_2$ in Benzol zum ε-Carbobenzoxy-N-carboxy-L-lysin-anhydrid. Letzeres polymerisiert in Benzol bzw. Dioxan unter Zusatz wechselnder Mengen NaOH/Methanol als Initiator zum -Carbobenzoxy-poly-L-lysin. Die Abspaltung der ε-Carbobenzoxygruppe erfolgte entweder mit HBr/Eisessig oder SO_2/HBr. (19)

3-Carbamoylpyridinio-ß-oxy-γ-chlorpropan-bromid

12 g Nicotinsäureamid und 20 g α-Brom-γ-chlorhydrin werden 3 Stunden auf dem siedendem Wasserbad erhitzt. Man erhält stark viskoses hellbraungefärbtes Oel, das beim Verreiben mit absolutem Aethanol durchkristallisiert. Umkristallisiert aus 90 %igem Aethanol liefert Nadeln.

Ausbeute: 23 g = 79,3 % der Theorie

F. 179 - 180°C (Z)

$C_9H_{12}O_2N_2BrCl$ MG 295,6

Ber.	C 36,57 %	H 4,09 %	N 9,48 %
Gef.	36,68 %	3,97 %	9,52 %

3-Carbamoyl-pyridiniopropionsäure-chlorid

5,3 g ß-Chlorpropionsäure werden auf siedendem Wasserbad geschmolzen. Dazu gibt man eine Lösung von 5 g Nicotinsäureamid in 10 ml Aethanol und erhitzt das Reaktionsgemisch 1-2 Stunden. Es erfolgt Kristallisation, die durch Reiben mit dem Glasstab und Zugabe von absolutem Aethanol vollständig wird. Man kocht kurz auf und saugt heiß ab. Umkristallisation durch Suspendieren in siedendem Alkohol und Zugabe von Wasser bis zur vollständigen Lösung. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Amylalkohol liefert analysenreines Produkt.

Ausbeute: 5,25 g = 52 % der Theorie

F. 211°C (Z)

$C_9H_{11}O_3N_2Cl$ MG 230,65

Ber.	C 46,86 %	H 4,81 %	N 12,14 %	Cl 15,37 %
Gef.	46,85 %	4,74 %	12,16 %	15,27 %

3-Carbamoyl-pyridinio-propionsäuremethylester-chlorid

Zu 2 g ß-Chlorpropionsäuremethylester gibt man 1 g Nicotinsäureamid, erwärmt auf dem Wasserbad und läßt soviel Aethanol zutropfen, bis eine klare Lösung erhalten wird. Darauf erhitzt man auf siedendem Wasserbad mehrere Stunden, wobei der Alkohol allmählich verdampfen soll. Beim Abkühlen erhält man ein weißes Produkt, das aus Amylalkohol umkristallisiert Nadeln vom F. 197 - 199°C liefert.

Ausbeute: 1,5 g = 75 % der Theorie

$C_{10}H_{13}O_3N_2Cl$ MG 244,6

Ber.	C 49,10 %	H 5,36 %	N 11,45 %	Cl 14,49 %
Gef.	49,18 %	5,38 %	11,32 %	14,31 %

N^{ε}-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin

Zur Kupplung von 3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid (I) mit Poly-L-lysinhydrobromid nach der Carbodiimidmethode werden 3 Ausgangslösungen hergestellt.

a) 3 g Poly-L-lysin HBr werden in 40 ml H_2O gelöst. Dazu gibt man 128 ml Pyridin, so daß die Lösung an Pyridin 75 %ig ist.

b) 2,3 g (I) werden in möglichst wenig H_2O gelöst und mit Pyridin wie unter a) aufgefüllt.

c) 2,3 g Dicyclohexylcarbodiimid, das ist ein geringer Ueberschuß, werden in 20 ml Pyridin gelöst und zur Lösung vorsichtig 5 ml H_2O gegeben.

Die filtrierten, klaren Lösungen von a) und b) werden vereinigt und auf 5°C abgekühlt. Dazu gibt man unter stetem Umschütteln Lösung c). Das Reaktionsgemisch bleibt 3 Stunden unter Eiskühlung, danach bei Zimmertemperatur über Nacht stehen. Man saugt vom ausgeschiedenen Harnstoff ab und engt das Filtrat nach Zugabe von 2 ml Eisessig zur Zerstörung nicht umgesetzten Carbodiimids im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird zur Entfernung des Pyridiniumhalogenids zweimal mit Aethanol extrahiert. Das so erhaltene Produkt ist leicht gelb gefärbt. Es ist in Wasser löslich, in organischen Lösungsmitteln unlöslich und kann aus Wasser/Aethanol/Aether umgefällt werden.

Ausbeute: 3,9 g

Chloracetylglycylglycin

nach E. FISCHER (35) durch Umsetzung von 54 g Diketopiperazin mit 60 g Chloracetylchlorid und 5 n NaOH.

Ausbeute: 42 g = 43 % der Theorie

F. 176°C

Chloracetyldiglycyl-L-tyrosinäthylester

4,18 g L-Tyrosinäthylester, aus dem Hydrochlorid mit $CHCl_3/NH_3$ erhalten, werden in 17 ml, 5 g Dicyclohexylcarbodiimid in 20 ml Tetrahydrofuran gelöst, filtriert und auf 2°C abgekühlt. 4,16 g Chloracetyldiglycin löst man zunächst in 20 ml Wasser, gibt nach Filtration 60 ml Tetrahydrofuran hinzu und kühlt auf 2°C ab. Die Lösungen werden unter Eiskühlung vereinigt und noch 1/2 Stunde bei dieser Temperatur belassen. Nach Stehen über Nacht wird vom abgeschiedenen Harnstoff abgesaugt, wobei der beim Einengen noch ausfallende Harnstoff entfernt wird. Das zurückbleibende Oel versetzt man mit wenig Alkohol, der zur Kristallisation des Esters führt.

Ausbeute: 7,5 g = 90 % der Theorie

F. 178°C

$[\alpha]_D^{25} = +14,4°$ (c = 2; Aethanol)

$C_{17}H_{22}O_6N_3Cl$ MG 399,8

Ber.	C 51,05 %	H 5,54 %	N 10,51 %	Cl 8,89 %
Gef.	50,98 %	5,55 %	10,53 %	8,70 %

Chloracetyldiglycyl-L-phenylalaninäthylester

Die Lösungen von 3,8 g L-Phenylalaninäthylester (aus dem Hydrochlorid mit $NH_3/CHCl_3$ erhalten) in 8 ml und von 5 g Dicyclohexylcarbodiimid in 32 ml Tetrahydrofuran werden nach Filtration und Abkühlung zu einer Lösung von 4,2 g Chloracetyldiglycin gegeben und analog vorstehender Vorschrift weiterbehandelt. Den beim Einengen zur Trockne erhaltenen Rückstand extrahiert man zur Entfernung überschüssigen Carbodiimids mit Aether, nimmt in wenig Aethanol auf und versetzt bis zur beginnenden Ausfällung mit Aether. Beim Abkühlen kristallisiert der Ester.

Ausbeute: 7,1 g = 91 % der Theorie

F. 158-159°C

$[\alpha]_D^{25}$ = + 10,4 (c = 2; Aethanol)

$C_{17}H_{22}O_5N_3Cl$ MG 383,8

Ber.	C 53,2 %	H 5,78 %	N 10,95 %
Gef.	53,31 %	5,72 %	10,73 %

3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-chlorid

3,5 g Chloracetyldiglycin werden in 150 ml Aethanol am Rückfluß gelöst und 2,5 g Nicotinsäureamid, gelöst in 20 ml Alkohol, hinzugegeben. Man kocht 10 Stunden am Rückfluß und destilliert dann unter Normaldruck den Alkohol langsam bis auf 50 ml ab. Beim Abkühlen kristallisiert obige Verbindung aus. Nach erneutem kurzen Aufkochen wird heiß abgesaugt und mit heißem Aethanol nachgewaschen. Das Rohprodukt wird aus 94 %igem Aethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 3,55 g = 63,3 % der Theorie

F. 213°C (Z)

$C_{12}H_{15}O_5N_4Cl$ MG 330,7

Ber.	C 43,58 %	H 4,57 %	N 16,94 %
Gef.	43,68 %	4,73 %	17,36 %

Zur Darstellung kleiner Mengen obiger Verbindung kann man auch folgende Methode heranziehen: Nicotinsäureamid wird vorsichtig geschmolzen und Chloracetyldiglycin im Unterschuß hinzugegeben. Man erhält eine glasklare Schmelze, die nach 10 Minuten mit wenig Aethanol und 1 Tropfen Nitromethan versetzt, spontan durchkristallisiert. Heiß absaugen und mit heißem abs. Aethanol waschen liefert reines Produkt von F. 213°C (Z).

3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycyl-L-tyrosinäthylesterchlorid

1 g Chloracetyldiglycyl-L-tyrosinäthylester werden in 80 cc siedendem abs. Aethanol gelöst und mit einer Lösung von 0,37 g Nicotinsäureamid in 10 ml Aethanol versetzt. Das Reaktionsgemisch kocht man 36 Stunden am Rückfluß, engt danach auf das halbe Volumen ein und fällt mit Essigester aus. Es wird abzentrifugiert, das Produkt mit Aether verrieben und erneut abzentrifugiert; trocknen im Exsiccator über $NaOH/P_2O_5$. Mehrmaliges Umfällen aus Alkohol/Essigester liefert eine leicht gelb gefärbte Substanz, die in Wasser und Aethanol leicht löslich und stark hygroskopisch ist.

Ausbeute: 0,85 g = 65 % der Theorie

Obige Verbindung läßt sich auch herstellen durch Carbodiimidkupplung von 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-

chlorid mit freiem L-Tyrosinäthylester:

1,65 g 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-chlorid und 1,05 g L-Tyrosinäthylester werden in 53 ml wässrigem Pyridin (30 ml Pyridin/23 ml H_2O) gelöst und auf 0°C abgekühlt. Dazu gibt man 1,5 g Dicyclohexylcarbodiimid gelöst in 30 ml Pyridin. Nach 20 Stunden wird vom Harnstoff abgesaugt, im Vakuum bis zur Trockne eingeengt, mit Wasser versetzt, filtriert und das trübe Filtrat zur Entfernung überschüssigen Carbodiimids mit Aether extrahiert. Die klare wässrige Lösung wird dann erneut stark eingeengt. Die Pyridinioverbindung erhält man durch Ausfällen mit Alkohol/Aether bzw. Alkohol/Essigester wie oben angegeben.

Ausbeute: 1,88 g = 75 % der Theorie

$C_{23}H_{28}O_7N_5Cl$ MG 521,9 $\alpha_D^{23} = +9,5 \pm 1°$ (c = 2; H_2O)

Ber.	Cl 6,79 %
Gef.	6,62 %

3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycyl-L-phenylalaninäthylester-chlorid

A. 1,9 g Chloracetyldiglycyl-L-phenylalaninäthylester werden in 50 ml siedendem Aethanol gelöst und eine Lösung von 0,7 g Nicotinsäureamid in 15 ml Aethanol hinzugegeben. Durch Kochen am Rückfluß über 40^h erzielt man vollständige Umsetzung. Es wird mit Aether ausgefällt, abzentrifugiert, in Wasser aufgenommen, filtriert und im Vakuumexsiccator über NaOH/P_2O_5 bis zur vollständigen Trockne aufbewahrt. Die so erhaltene Verbindung ist stark hygroskopisch.

Ausbeute: 1,9 g

$[\alpha]_D^{20} = +5,7 \pm 1°$ (c = 2; H_2O)

$C_{23}H_{28}O_6N_5Cl$ MG 505,9

Ber. Cl 7,08 %
Gef. 6,87 %

B. Obige Verbindung erhält man auch durch Kupplung von 1,7 g 3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycin-chlorid, gelöst in 3 ml H_2O/7 ml Pyridin und 1,3 g L-Phenylalaninäthylester HCl, gelöst in 2 ml H_2O/7 ml Pyridin, mit 1,5 g Dicyclohexylcarbodiimid, gelöst in 10 ml Pyridin. Dabei erfolgt die Aufarbeitung in der üblichen Weise.

C. Bei der Carbodiimidkupplung mit freiem L-Phenylalaninäthylester, der aus dem Hydrochlorid durch Behandlung mit $CHCl_3/NH_3$ erhalten wird, konnte das gewünschte Endprodukt nicht erhalten werden.

3,8 g freien Esters, als Oel vorliegend, wurden in 20 ml Pyridin, sowie 5 g Dicyclohexylcarbodiimid in 60 ml Pyridin und 6,2 g 3-Carbamoylpyridinioacetyldiglycin-chlorid in 20 ml H_2O/50 ml Pyridin aufgenommen. Nach Abkühlen auf 0°C wurden die Lösungen vereinigt. Die zunächst aufgetretene Trübung wurde durch Zugabe von 10 ml H_2O und 30 ml Tetrahydrofuran vermindert. Nach 1-stündigem Schütteln blieb das Reaktionsgemisch über Nacht stehen. Nach Absaugen und Waschen des Rückstandes mit H_2O wurden Filtrat und Waschwasser vereinigt und im Vakuum zur Trockne eingeengt. Die so erhaltene Substanz mit Aether extrahiert, anschließend in wenig H_2O aufgenommen und nach Filtration mit Aethanol bis zur beginnenden Trübung versetzt. Beim Aufbewahren im Eisschrank schied sich stark gelb gefärbte Substanz aus, die aus wässrigem Aethanol umkristallisiert wurde.

Ausbeute: 3,5 g

F. 252,5°C (Z)

Die Substanz ist frei von Cl^- Ionen (negative Beilsteinprobe, Elementaranalyse 0 % Cl).

Das UV-Spektrum einer wäßrigen Lösung (7,49 mg/25 ml H_2O) zeigt λ_{Max} = 266,6 mμ. Danach liegt eine Pyridinioverbindung vor. Die Zugabe von 1 M KCN liefert ein Maximum bei λ_{Max} = 334,5 mμ. Ueber das IR-Spektrum (s.S.44).

Aus der Elementaranalyse geht hervor, daß eine Kupplung mit L-Phenylalaninäthylester nicht erfolgte, sondern eine HCl-Abspaltung am 3-Carbamoylpyridinioacetyldiglycin-chlorid eingetreten ist.

Gef. C 48,62 % H 4,93 % N 18,90 %

Ber. f. Dihydroverb.	C 48,64 %	H 5,44 %	N 18,91 %
" " Zwitterion	48,97 %	4,80 %	19,04 %

3-Carbamoylpyridinioacetylglycylglycyl-L-alaninmethylesterchlorid

Zu 2,76 g 3-Carbamoylpyridinioacetyldiglycin-chlorid und 1,17 g L-Alaninmethylester HCl, gelöst in 19 ml H_2O/25ml Pyridin, wurden 2,6 g Dicyclohexylcarbodiimid, gelöst in 25 ml Pyridin, gegeben und das Reaktionsgemisch nach Stehen über Nacht, wie bei den analogen Verbindungen angegeben, aufgearbeitet.

Ausbeute: 2,3 g = 63 % der Theorie

$[\alpha]_D^{23}$ = -12,3 ± 1° (c = 2; H_2O)

$C_{16}H_{22}O_5N_3Cl$ MG 415,8

Ber. Cl 8,53 %
Gef. 8,76 %

3-Carbamoylpyridinioessigsäure-betain

6,25 g Chloressigsäure, auf dem Wasserbad geschmolzen, dazu eine Lösung von 6 g Nicotinsäureamid in 12 ml siedendem Aethanol gegeben und bis zur Kristallisation auf dem Wasserbad erhitzt, heiß abgesaugt mit absolutem Aethanol nachgewaschen, umkristallisiert aus wässrigem Alkohol.

Ausbeute: 4,6 g

F. 186°C

Die Elementaranalyse ergab nicht das zu erwartende Pyridiniochlorid, sondern das entsprechende Betain.

$C_8H_8O_3N_2$ MG 168,2

Betain	Ber.	C 49,96 %	H 4,79 %	N 16,66 %
	Gef.	49,98 %	4,80 %	15,62 %

3-Carbamoyl-pyridinio-propionylglycinbenzylester-chlorid

1,91 g Glycinbenzylesterhydrochlorid und 2,3 g 3-Carbamoyl-pyridinio-propionsäure-chlorid werden in 20 ml Wasser gelöst, 50 ml Pyridin hinzugefügt und auf 0° abgekühlt. Dazu gibt man eine eisgekühlte Lösung von 2,3 g Dicyclohexylcarbodiimid in 15 ml Pyridin. Das Reaktionsgemisch wird 1 Stunde bei 0° belassen und dann bei Zimmertemperatur über Nacht aufbewahrt. Man saugt vom ausgefallenen Harnstoff ab, engt im Vakuum zur Trockne ein und extrahiert den Rückstand zur Entfernung überschüssigen Carbodiimids mit Aether. Aufnehmen in wenig Aethanol und Zugabe von Aceton führt unter Eiskühlung zur Kristallisation. Das Rohprodukt hat einen Schmelzpunkt von 148-149°C (Z). Mehrmalige Umkristallisation aus Aethanol/Aceton liefert analysenreines Produkt.

Ausbeute: 2,2 g = 56 % der Theorie

F. 154°C (Z)

$C_{18}H_{20}O_4N_3Cl$ MG 377,8

Ber.	C 57,22 %	H 5,33 %	N 11,12 %	Cl 9,39 %
Gef.	57,18 %	5,21 %	10,49 %	9,47 %

3-Methylcarbamoyl-pyridinio-propionsäure-chlorid

2,3 g ß-Chlorpropionsäure werden auf siedendem Wasserbad geschmolzen um 2,5 g Nicotinsäuremethylamid eingetragen. Das Reaktionsgemisch wird 1 1/2 Std auf dem siedenden Wasserbad erhitzt und anschließend 100 ml abs. Aethanol hinzugegeben. Dabei erfolgt allmählich Kristallisation. Nach kurzem Aufkochen wird heiß abgesaugt. Umkristallisation aus Aethanol/H_2O oder Amylalkohol.

Ausbeute: 1,6 g = 40 % der Theorie

F. 189 - 191°C

$C_{10}H_{13}O_3N_2Cl$ MG 244,6

Ber.	C 49,10 %	H 5,36 %	N 11,45 %	Cl 14,49 %
Gef.	49,75 %	5,45 %	11,43 %	14,43 %

VII. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird über die Synthese des N^{ε}-[3-Carbamoylpyridiniopropionyl-chlorid]-poly-L-lysin aus Poly-L-lysinhydrobromid und 3-Carbamoylpyridiniopropionsäure-chlorid durch Anwendung einer modifizierten Carbodiimidmethode berichtet. Die Struktur dieser Verbindung in Lösung wird durch Messung der Rotationsdispersion bestimmt. Danach liegt unterhalb p_H 8 die geknäulte (random coiled) Form vor, die im Bereich p_H 8-10 eine Umwandlung in die α-Helix im Sinne Paulings erfährt und als solche oberhalb p_H 10 stabil ist. Es werden Synthesen von Pyridiniopropionylverbindungen und Pyridinioacetylpeptiden bzw. -peptidestern beschrieben. Durch Messung der UV-Absorption der Cyanidanlagerung kann gezeigt werden, daß die Pyridinioacetylpeptide u. -peptidester einem anderen Reaktionsmechanismus folgen, als die Pyridiniopropionylverbindungen. Der Reaktionsmechanismus wird diskutiert.

Anhand von IR-Spektren in 3-Stellung substituierter Pyridine und einfacher Pyridinioverbindungen wird die Aenderung des Spektrum beim Uebergang Pyridin ——→ Pyridinioverbindung diskutiert.

VIII. Literaturverzeichnis

1) W. LAUTSCH, W. BROSER, W. BIEDERMANN, U. DOEHRING, H. ZOSCHKE, Kolloid-Z. 125, 72 (1952)

2) W. LAUTSCH u. Mitarb., J.Polymer Sci. 8, 191 (1952)

3) W. BROSER, W. LAUTSCH, Naturw. 38, 208 (1951)

4) W. LAUTSCH, W. BROSER, W. BIEDERMANN, H. GNICHTEL, Angew.Chem. 66, 123 (1954)

5) W. LAUTSCH u. Mitarb., Kolloid-Z. 144, 82 (1955)

6) W. LAUTSCH u. Mitarb., Kolloid-Z. 161, 1 (1958)

7) W. BROSER u. W. LAUTSCH, Z.Naturforsch. 11b, 453 (1956)

8) W. LAUTSCH u. Mitarb., Chimia Zürich 13, 129 (1959)

9) K. ZEILE, P. PIUTTI, Z.physiol.Chem. 218, 52 (1933)

W. GEHRMANN, Diplomarbeit F.U. Berlin 1955

W. LAUTSCH u. Mitarb., Chem.Ber. 90, 470 (1957)

10) M. BOLDT, Diplomarbeit F.U. Berlin

11) O. WARBURG, Wasserstoffübertragende Fermente (Berlin) (1948)

12) O. WARBURG, W. CHRISTIAN u. A. GRIESE, Biochem.Z. 282, 157 (1935)

13) O. WARBURG, W. CHRISTIAN, ebenda 287, 291 (1936)

14) P. KARRER, O. WARBURG, ebenda 285, 297 (1936)

P. KARRER, F.J. STARE, Helv.chim.Acta 20, 418 (1937)

15) G.W. RAFTER, S.P. COLOWICK, J.biol.chemistry 209, 773 (1954)

16) K. WALLENFELS, H. SCHUELY, Liebigs Ann. Chem. 621, 186 (1959)

ebenda 621, 106 (1959)

ebenda 621, 137 (1959)

17) M. BERGMANN, L. ZERVAS, W.F. ROSS, J.biol.Chem. 111, 245 (1935)

18) E. KATCHALSKI, I. GROSSFELD, M. FRANKEL, J.Amer.chem.Soc. 70,2094 (1948)

19) D. BEN-ISCHAI, J.org.chemistry 19, 62 (1954)
E.R. BLOUT, M. IDELSON, J.Amer.chem.Soc. 78, 497 (1956)
M. SELA, E. KATCHALSKI, ebenda 76, 129 (1954)

20) J.C. SHEEHAN, I.P. HESS, J.Amer.chem.Soc. 77,1067 (1955)

21) L. PAULING, R.B. COREY, Proc.Nat.Ac.Soc. USA 37, 205 (1951)
ebenda 37, 235 (1951)

22) S.E. DARMON, G.B.B.M. SUTHERLAND, J.Amer.chem.Soc. 69,2074 (1947)
W.T. ASTBURY, C.E. DAGLIESH, S.E. DARMON, G.B.B.M. SUTHERLAND, Nature 162, 596 (1948)
E.J. AMBROSE, A. ELLIOTT, Proc.Roy.Soc. London, Ser. A. 208, 75 (1951)
ebenda 206, 206 (1951)
ebenda 205, 47 (1951)
Nature 163, 438, 859 (1949)
ebenda 165, 921 (1950)

23) C.H. BAMFORD, W.E. HANBY, F. HAPPY, Proc.Roy.Soc. London, Ser.A. 205, 30 (1951)

24) W. MOFFIT, J.chem.Phys. 25, 467 (1956)
W. MOFFIT, J.T. YANG, Proc.Nat.Acad. Sci. USA 42, 596 (1956)
W. MOFFIT, ebenda 42, 736 (1956)

25) P. DOTY, A.M. HOLTZER, J.H. BRADBURG, E.R BLOUT, J.Am.chem.Soc. 76,4493 (1954)
J.T. YANG, P. DOTY, J.Am.chem.Soc. 79, 764 (1957)
P. DOTY, A. WADA, I.T. YANG, E.R. BLOUT J.Polymer Sci. 23, 853 (1957)

26) O. MEYERHOF, P. OHLMEYER, W. MOHLE, Biochem.Z. 297, 113 (1938)

27) S.P. COLOWICK, N.O. KAPLAN, M.M. CIOTTI, J.biol.Chemistry 191, 447 (1951)

28) A. SAN PIETRO, J.biol.Chemistry 217, 579 (1955)

29) N.O. KAPLAN, R.M. BURTON, M.R. LAMBORG, J.Am.chem.Soc. 79,6173 (1957)

30) K. WALLENFELS, H. DICKMANN, Liebigs Ann. Chem. 621, 166 (1959)

31) H.L. SCHLAEFER, O. KLING, Angew.Chem. 68, 667 (1956)

32) L.J. BELLAMY, Ultrarot-Spektrum u. chemische Konstitutionen. Darmstadt 216 (1955)

33) H.M. RANDALL, R.C. FOWLER, N. FUSON, I.R. DANGL, Infrared Determination of organic Structures, (D. van Nostrand Co, New York) 32 (1949)

34) B. WITKOP, J.Am.chem.Soc. 76,5597 (1955)
Experientia (Basel) 10, 420 (1954)

35) Ber.dtsch.chem.Ges.B 37,2500 (1904)

Vorstehende Arbeit wurde im Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Prof.Dr. W. Lautsch angefertigt.

Herrn Prof.Dr.W.Lautsch danke ich für jegliche Unterstützung sowie für die Bereitstellung der Mittel.

Lebenslauf

Am 4. September 1927 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Wilhelm Woldt und seiner Ehefrau Else, geb. Haake, in Fürstenwalde/Spree geboren. Von 1934 bis 1937 besuchte ich die Grundschule, danach bis 1944 das Gymnasium und folgte dann der Einberufung zum Arbeits- und Wehrdienst. Im Jahre 1947 wurde ich aus englischer Gefangenschaft entlassen. Nach Teilnahme am Abiturienten-Sonderlehrgang an der Lichterfelder Oberschule in Berlin bestand ich die Reifeprüfung am 28. November 1947.

Bis zum Beginn des Chemiestudiums im Sommersemester 1949 an der Freien Universität war ich als Chemiepraktikant in der Industrie tätig. Am 23. Januar 1952 legte ich die Diplomvorprüfung ab. Die Diplomarbeit führte ich bei Herrn Prof.Dr.W. Lautsch aus und bestand die Diplomprüfung am 16. Juni 1954 mit "gut". Vom Oktober 1954 bis April 1959 war ich am Institut für Organische Chemie der Freien Universität als wissenschaftliche Hilfskraft und wissenschaftlicher Mitarbeiter tätig. Seit dem 1. Mai 1959 bin ich dort wissenschaftlicher Assistent.